ПАРАЗИТОЛОГИЯ, 29, 1, 1995

УДК 576.895.771
© 1995

МОРФОЛОГИЯ ЛИЧИНОК И КАРИОТИПЫ ДВУХ БЛИЗКИХ ВИДОВ МОШЕК РОДА MONTISIMULIUM (DIPTERA: SIMULIIDAE)

Л. А. Чубарева

Приведены результаты сравнительного изучения морфологии и кариотипов двух близких видов мошек рода *Montisimulium* Rubzov: типового вида *M. shevjakovi* Dor., Rubz., Vlas. и *M. decimfiliatum* Rubz. На давленых ацето-орсеиновых препаратах гонад, ганглий и слюнных желез личинок определены диплоидные числа ($2n = 6$) и основные маркеры политенных хромосом: локализация центромер, ядрышка, колец Бальбиани, пуффов и др. Разработаны и впервые публикуются фотокарты политенных хромосом. Установлено, что по ряду морфологических признаков данные виды сходны, тогда как по кариотипическим показателям — по структурным особенностям центромер, локализации ядрышка и двум гомозиготным инверсиям — они четко различаются.

До недавнего времени виды мошек рода *Montisimulium* в качестве двух особых групп видов — *montium* Rubz. и *alpinum* Rubz. входили в состав рода *Eusimulium* Roubaud — одного из самых крупных родов в сем Simuliidae, включавшего в себя, кроме двух вышеназванных групп, еще три обширные группы видов: *angustitarse* Lundstrem, *aureum* Fries и *latipes* Meigen. В дальнейшем все перечисленные группы видов были выделены в самостоятельные роды, при этом за ними были сохранены уже имеющиеся названия надвидовых таксонов: за группой *angustitarse* — *Chelocnetha* Enderlein, за *aureum* — *Eusimulium* s. str. за *latipes* — *Cnetha* End.; группы *montium* и *alpinum* были объединены родовым названием *Montisimulium* Rubzov (Рубцов, 1974).

Систематики относят данный род к таксонам, обладающим рядом плезиоморфных признаков. Так, для личинок характерны толстые, немногочисленные щетинки в большом веере, крупные, отчетливо разделенные и сильно хитинизированные 1-й и 5-й зубцы субментума, неглубокий или едва намеченный вентральный вырез головной капсулы; для куколок — простой кокон грубого плетения, покрывающий ее тело только наполовину, 8—14 дыхательных нитей (Рубцов, 1956, 1974; Рубцов, Янковский, 1984).

Виды, относящиеся к роду *Montisimulium*, населяют высокогорные холодные родники, ручьи и небольшие речки Средней и Центральной Азии, Кавказа, горных систем Восточной и Западной Сибири и Приморского края (Рубцов, 1956; Патрушева, 1982). Фауна мошек этих регионов изучена недостаточно. Для большинства видов, относящихся к данному роду, нет полных описаний по всем фазам развития: виды описаны либо только по личинкам, наиболее доступным при сборе материала, либо по куколкам, либо по взрослым насекомым, что весьма затрудняет их таксономическую диагностику.

В Палеарктике известно более 40 видов и подвидов *Montisimulium*. Надо отметить, что мошки, обладая малыми размерами (взрослые насекомые — 2—3, личинки — 8—10,12, куколки — 3—4 мм) и слабовыраженными морфологическими отличиями, выявляющимися лишь при микроскопическом анализе специально изготовленных препаратов частей тела, относятся к числу трудных объектов. Их видовая диагностика представляет значительные трудности, усугубляющиеся еще тем, что исследователю далеко не всегда удается иметь все фазы развития насекомого.

Среди основных морфологических признаков, используемых в систематике сем. Simuliidae, Рубцовым (1956) выделены следующие: форма вентрального выреза головной капсулы, число лучей премандибул (щетинок больших вееров), конфигурация зубцов субментума и мандибулы, число рядов крючков и их число в каждом ряду в прикрепительном органе (в задней присоске) — у личинок, число дыхательных нитей и форма кокона — у куколок, строение гениталий — у взрослых насекомых. С учетом сказанного выполнена настоящая работа.

В последнее время наряду с классическим морфологическим методом исследования проводится кариотипический анализ сем. Simuliidae. Кариологические данные особенно полезны при изучении близких видов мошек, трудно различимых по морфологическим признакам.

В общей сложности нами проанализированы кариотипы свыше 120 видов мошек 34 родов (Чубарева, 1986; Петрова, 1992), приведены их краткие характеристики, среди которых 11 относятся к видам *Montisimulium* (Чубарева, Петрова, 1979). Опубликованы фотокарты политенных хромосом более 50 видов 20 родов, в том числе *Montisimulium*: *M. montium*, *M. gviletense alizadei* Djaf. (Чубарева, Качворян, 1975) и *M. danijari* (Чубарева, Исмагулов, 1992). Предмет настоящей статьи — морфокариотипический анализ близких видов — *M. shevjakovi* и *M. decimfiliatum*.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Материал по *M. shevjakovi* собран в июне 1977 г. в Прибайкалье (Большие Коты) в ручье, впадающем в озеро Байкал, в той же зоне, где в 1935 г. были проведены сборы с последующим описанием данного типового вида. Имелись все фазы развития, изучено 18 особей. Материал по *M. decimfiliatum* собран в Таджикистане (Варзобский р-н, р. Кондаринка, VI 1971). Имелись только 3 зрелые личинки. Фиксация объектов проводилась на местах сборов смесью 96-градусного этилового спирта и ледяной уксусной кислоты (3 : 1) с последующим их хранением в холодильнике. Для определения видового статуса собранного материала были изготовлены энтомологические препараты и проанализированы морфологические детали строения личинок, куколок и имаго. Для кариологического анализа готовились давленые ацето-орсеиновые препараты политенных хромосом слюнных желез и митотических хромосом гонад и ганглий личинок старшего возраста со зрелыми дыхательными нитями. Эти препараты исследовались под микроскопом МБИ-3 с использованием иммерсионных оптических систем. Фотографирование хромосомных комплексов проводилось с помощью микрофотонасадки МФН-11. Для создания фотокарт политенных хромосом выбирались клетки с хорошо расправленными хромосомами. Съемка проводилась при увеличении микроскопа 90 × 7. Политенные хромосомы из-за своих гигантских размеров на одном кадре фотопленки не умещались и поэтому фотографировались последовательно, частями. После изготовления фотоотпечатков хромосомных наборов хромосомы вырезались, их участки склеивались в определенной последовательности, и в результате воссоздавались целые хромосомы набора. Один комплект хромосом (кариотип) наклеивался на листе плотной бумаги, после чего следовало разделение хромосом на секции и их цифровое обозначение. На фотокартах отмечались основые маркеры хромосом: центромеры, зона расположения ядрышка (ядрышкового организатора) — N, кольца Бальбиани, пуффы, специфические маркерные диски, хромосомные перестройки. Другой комплект вырезанных и

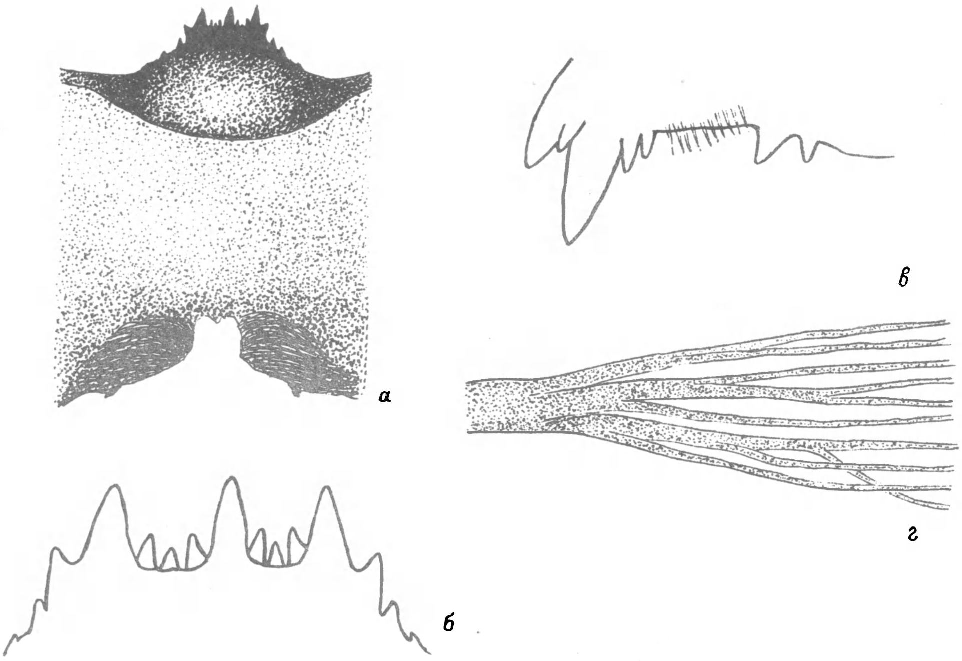

Рис. 1. Морфологические детали строения личинки *Montisimulium shevjakovi.*

а — субментум и вентральный вырез головной капсулы, *б* — передний край субментума, *в* — передний край мандибулы, *г* — дыхательные нити.

Fig. 1. Morphological details of the larvae structure of *Montisimulium shevjakovi.*

смонтированных хромосомных комплексов оставался ненаклеенным с тем, чтобы в дальнейшем можно было использовать его для сравнения с кариотипами других видов.

Картирование политенных хромосом проведено на основе сопоставления рисунков дисков хромосомных комплексов изучаемых видов с фотокартами гомеологичных хромосом вида *M. montium*, изученного ранее (Чубарева, Качворян, 1975), кариотип которого принят нами в качестве стандарта для групп видов рода *Montisimulium.*

Для измерения длин политенных хромосом их контуры зарисовывались с помощью рисовального аппарата РА-4 при увеличении микроскопа 90 × 10. Затем курвиметром определялись длины зарисованных хромосом и их плеч *S* и *L*. Измерялись хромосомные наборы 30 ядер, по 3 ядра от 10 особей.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

M. shevjakovi — типовой вид рода

Морфологические признаки личинки (рис. 1, *а—г*). Длина тела 10 мм, голова темная, рисунок лба позитивный, отчетливый, вентральный вырез головной капсулы небольшой, неглубокий. Конец мандибулы с крупным вершинным зубцом, внутренних зубцов 9—10, краевых — 2. Субментум с отчетливыми 6 боковыми зубцами, 1-й и 5-й зубцы одинаковой величины. В большом веере 29—32 щетинок. В задней присоске 80 рядов крючков, по 11—12 крючков в каждом ряду. По обеим сторонам тела по 10 дыхательных нитей в черных бугорках.

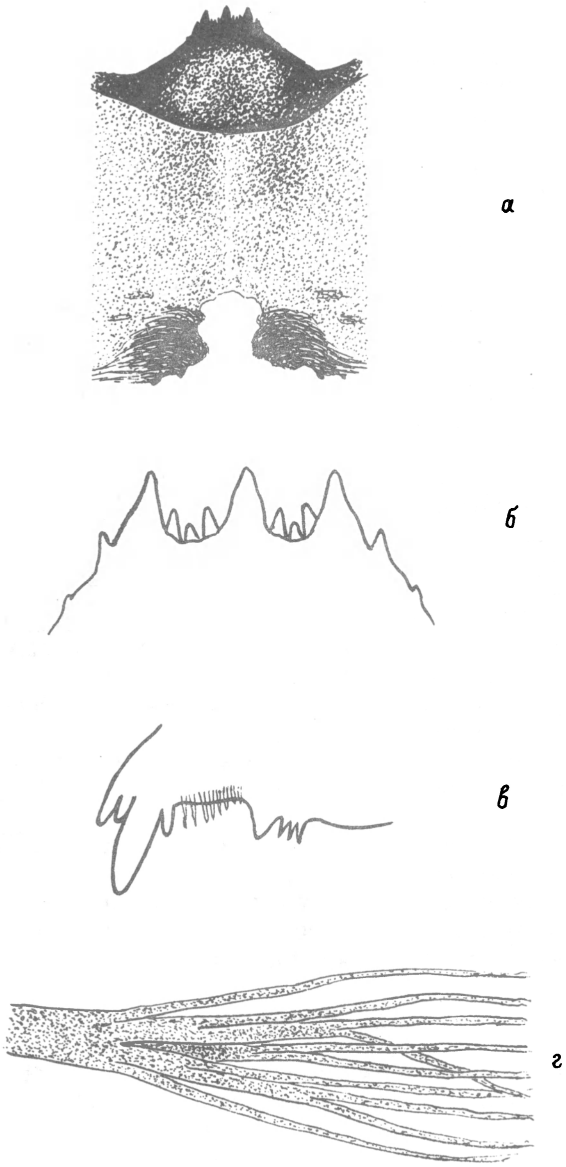

Рис. 2. Морфологические детали строения личинки *Montisimulium decimfiliatum*.
Обозначения, как на рис. 1.

Fig. 2. Morphological details of the larvae structure of *Montisimulium decimfiliatum*.

Кариотипические признаки (рис. 3, *а—г*; см. вкл.). $2n = 6$. Гомологичные хромосомы полностью сконъюгированы, центромеры отчетливы, ядрышко связано с хромосомой I. Прежде чем приступить к разметке хромосомных комплексов *M. shevjakovi* на секции, было проведено тщательное сравнение рисунков дисков с фотокартами гомеологичных хромосом *M. montium*. В результате было установлено, что по рисунку дисков хромосомы II *M. shevjakovi* и *M. montium* идентичны, поэтому картирование хромосомы II

M. shevjakovi по секциям 1—28 полностью совпадает с таковым хромосомы II *M. montium* (рис. 3, *б*). Аналогичным образом проведен сравнительный анализ одноименных хромосом I, а затем хромосом III названных таксонов. Оказалось, что рисунки дисков гомеологичных хромосом I *M. shevjakovi* и *M. montium* на значительном протяжении тоже совпадают, однако в хромосоме I *M. shevjakovi* большой участок (секции 4—11) по отношению к *M. montium* (стандарт) инвертирован, представляя собой гомозиготную инверсию Inv_1 (рис. 3, *а*). При сравнении рисунков дисков хромосом III обоих видов установлено, что в хромосоме III *M. shevjakovi* также имеется гомозиготная инверсия Inv_2 в III *L*, правда меньшей протяженности (секции 20—23, рис. 3, *в*). Кариотипические различия между *M. shevjakovi* и *M. montium* обнаружены и в локализации ядрышка. Надо сказать, что локализация центромеры и ядрышкового организатора в том или ином участке хромосомы является одним из важных признаков кариотипа. В кариотипе *M. montium*, принятом за стандарт, ядрышко расположено в непосредственной близости от центромерной зоны, а в кариотипе *M. shevjakovi* оно находится на значительном расстоянии от центромеры (секция 20). Путем сопоставления рисунков дисков по фотокартам гомеологичных хромосом удалось установить, что изменение локализации ядрышка в кариотипе сопряжено с его транслокацией на участок, расположенный в секции 14 хромосомы I.

Дополним характеристику кариотипа *M. shevjakovi*, отметив, что конец длинного плеча хромосомы I (секция 1) обладает типичным для большинства видов мошек маркерным рисунком дисков: 5Д—Д—П—Д (5 тонких Дисков-Диск-Пуфф-Диск). Хромосома II маркирована серией пуффов, из которых два наиболее крупные (РР в II *S* секции 4—6), пятью толстыми дисками (5Д) вблизи центромеры (секции 9—11). Конец II *L* распознается по двум сближенным дискам (2Д, секция 28), что также свойственно многим видам трибы Eusimuliini. Конец III *S* веерообразно расширен (*F*, секции 1, 2); это плечо маркировано сдвоенными пуффами и сложным диском между ними (РДР, секции 6, 7). Длина хромосом: I — 428.8 ± 6.6 мкм, II — 288.2 ∓ 5.4 мкм, III — 306.8 ∓ 4.2 мкм.

Таким образом, *M. shevjakovi* и *M. montium*, хотя и обладают значительным сходством генетических систем, являясь близкими видами, тем не менее существенно отличаются один от другого своими кариотипическими признаками — двумя гомозиготными инверсиями и локализацией ядрышкового организатора в разных участках хромосом I.

M. decimfiliatum

Морфологические признаки личинки (рис. 2, *а*—*г*). Длина тела 9 мм, голова темная, рисунок лба позитивный, неявственный. Вентральный вырез головной капсулы неглубокий, по ширине равен расстоянию между 5-ми зубцами субментума. 5-е зубцы субментума крупнее 1-го, центрального. Конец мандибулы с толстым, длинным вершинным зубцом, за 1-м крупным краевым зубцом 3 мелких, заостренных зубчика. В большом веере 32—35 щетинок. В задней присоске 83 ряда крючков, по 10—11 крючков в каждом ряду. По обеим сторонам тела 10 дыхательных нитей.

Кариотипические признаки (рис. 4, *а*—*г*; см. вкл.). $2n = 6$, гомологичные хромосомы полностью сконъюгированы. Характерна эктопическая конъюгация центромер, которые представляют собой интенсивно окрашенные, крупные, лишенные дисковой структуры образования гетерохроматической природы; в хромосоме I это секция 18, в хромосоме II — 12, в хромосоме III — 9. Данное качество центромер — наиболее броский и надежный маркер кариотипа. С ядрышком связано длинное плечо хромосомы I (секция 20). NO — маркер данной хромосомы. В отличие от кариотипа *M. shevjakovi* в от центромеры. Конец длинного плеча хромосомы I маркирован рисунком дисков 5Д—Д—П—Д. Хромосома II распознается по двум четким дискам 2Д на конце II*L* (секция 28), по крупным пуффам РР в II*S* (секция 4—6), по пяти плотным дискам (5Д) в прицентромерном районе (секция 9—10, рис. 4, *б*). Хромосома III отличается веерообразным концом *F* в III *S* и сдвоенными пуффами, разъединенными сложным диском (РДР, секция 6, рис. 4, *в*).

Детальный сравнительный анализ рисунков дисков политенных хромосом *M. decimfiliatum* и *M. montium* вскрыл несомненное сходство обоих кариотипов: это доказывается аналогичным расположением основных хромосомных маркеров и идентичностью рисунков дисков на значительных по протяженности участках хромосомных комплексов обоих видов. Вместе с тем в кариотипе *M. decimfiliatum* по сравнению с кариотипом *M. montium* (стандартом) обнаружены 2 инверсии гомозиготного типа; одна из них, — Inv_1, свойственная также и *M. shevjakovi*, расположена в хромосоме I (секции 4—11, рис. 4, *а*), другая — Inv_3 — в хромосоме II (секции 13—17, рис. 4, *б*), что свидетельствует о явных генотипических различиях между сравниваемыми таксонами.

После разработки фотокарт хромосомных комплексов *M. shevjakovi* и *M. decimfiliatum* можно было перейти к их характеристике и проведению сравнительного морфо-кариотипического анализа.

Сопоставление морфологических признаков личинок *M. shevjakovi* и *M. decimfiliatum* (рис. 1 и 2) убеждает в существовании между ними значительного сходства: у личинок обоих видов неглубокий, с неровными краями вентральный вырез головной капсулы, конец мандибулы с длинным, толстым вершинным зубцом; у них близкие показатели числа щетинок в больших веерах и рядов крючков в задней присоске, одинаковое число дыхательных нитей. По этим показателям данные виды трудно распознаются. Отличительным признаком является конфигурация зубцов на переднем крае субментума: у *M. shevjakovi* имеются хорошо развитые 6-е боковые зубцы, а у *M. decimfiliatum* они гораздо меньше и потому малоприметны. Кроме того, у *M. shevjakovi* 2 крупных краевых зубца мандибулы, тогда как у *M. decimfiliatum* за 1-м крупным краевым зубцом мандибулы расположены 3 мелких заостренных зубчика.

Сравнительно-кариологический анализ *M. shevjakovi* и *M. decimfiliatum*. Если снова обратиться к фотокартам политенных хромосом названных видов и провести последовательное сравнение по пронумерованным секциям, то можно убедиться в том, что значительные по протяженности участки одноименных гомеологичных хромосом этих видов идентичны (рис. 3, 4). Эти данные свидетельствуют о сходстве основных маркеров хромосом и их генетических систем. Однако существуют и отличительные особенности. Самым ярким и наглядным кариотипическим признаком *M. decimfiliatum* являются морфологические особенности центромерных районов хромосом — их эктопическая конъюгация, гетерохроматическая природа, компактность, размеры, интенсивная окраска, отсутствие типичной дисковой структуры. Кариотип *M. shevjakovi* отличает не менее значимый признак — транслоцированная зона ядрышкового организатора хромосомы I. Кроме того, сравниваемые таксоны различаются гомозиготными инверсиями: в кариотипе *M. shevjakovi* одна из них Inv_2 расположена в III*L*, а в кариотипе *M. decimfiliatum* в II*L* — Inv_3. В хромосомах I обоих видов Inv_1 идентичны, охватывая одинаковые участки хромосом (рис. 3, *а*; 4, *а*). Поскольку мутации типа хромосомных перестроек в естественных условиях явление не столь частое, вероятность повторного одномоментного возникновения сразу двух разломов в одних и тех же локусах хромосом с последующей инверсией крайне мала; наличие у разных видов идентичных инверсий означает, что эти инверсии достались им от общей предковой формы, свидетельствуя об общности их происхождения.

Подводя итоги проделанной работы, следует отметить, что сходство основных хромосомных маркеров и идентичность рисунков дисков значительных по протяженности участков гомеологичных хромосом свидетельствуют о сходстве их генетических систем и о родстве *M. montium*, *M. shevjakovi* и *M. decimfiliatum*. Вместе с тем эти близкие виды по ряду существенных кариотипических показателей четко различаются. Выявленные различия связаны со структурными особенностями центромерных районов, с локализацией ядрышкового организатора, а главное — с наличием двух достаточно обширных гомозиготных инверсий в хромосомах II и III, по которым эти виды легко распознаются.

Как показали результаты сравнительно-кариологического анализа, такие маркеры хромосом, как 5Д—Д—П—Д, 5Д, 2Д, F, РДН, РР, свойственные кариотипам всех изученных нами видов рода *Montisimulium*, следует расценивать как кариотипические признаки родового ранга, а возможно, и трибы. Различия на видовом уровне связаны прежде всего с видоспецифичностью рисунков дисков хромосомных комплексов, со структурными особенностями центромер и с хромосомными перестройками. В данной ситуации уместно подчеркнуть, что надежность кариотипа как таксономического признака не вызывает сомнений.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (код проекта 93—04—62—98).

Список литературы

Патрушева В. Д. Мошки Сибири и Дальнего Востока. Новосибирск: Наука, 1982. 321 с.

Петрова Н. А. Политенные хромосомы хирономид и мошек, их использование для изучения систематики и эволюции этих групп насекомых: Автореф. дис. ... докт. биол. наук. Л., 1992. 49 с.

Рубцов И. А. Мошки (сем. Simuliidae). 2-е изд. М.; Л., 1956. 860 с. (Фауна СССР. Т. 6, вып. 6).

Рубцов И. А. Об эволюции, филогении и классификации семейства мошек (Diptera, Simuliidae) // Тр. Зоол. ин-та РАН. Л., 1974. Т. 53. С. 230—281.

Рубцов И. А., Янковский А. В. Определитель родов мошек Палеарктики. Л.: Наука, 1984. 175 с.

Чубарева Л. А. Политенные хромосомы кровососущих мошек (Diptera, Simuliidae) и их использование в систематике: Автореф. дис. ... докт. биол. наук. Л., 1986. 48 с.

Чубарева Л. А., Исмагулов А. Г. Новый вид мошек Montisimulium danijari sp. n. (Diptera, Simuliidae) из Заилийского Алатау // Паразитология. 1992. Т. 26, вып. 1. С. 85—89.

Чубарева Л. А., Качворян Э. А. Сравнительно-кариологическое изучение двух близких видов мошек рода Eusimulium // Цитология. 1975. Т. 18, № 3. С. 351—354.

Чубарева Л. А., Петрова Н. А. Основные характеристики кариотипов мошек (Diptera, Simuliidae) мировой фуны // Кариосистематика беспозвоночных животных. Л., 1979. С. 58—95.

Чубарева Л. А., Петрова Н. А. Методика приготовления цитологических препаратов для кариологического изучения двукрылых насекомых // Новые данные по кариосистематике двукрылых насекомых. Тр. ЗИН АН СССР. Л., 1980. С. 73—80.

Зоологический институт РАН,
Санкт-Петербург

Поступила 16.02.1994

THE MORPHOLOGY OF LARVAE AND THE KARYOTYPES OF TWO RELATIVE SPECIES OF BLACK FLIES OF THE GENUS MONTISIMULIUM (DIPTERA: SIMULIIDAE)

L. A. Chubareva

Key words: Simuliidae, *Montisimulium*, larva, karyotype.

SUMMARY

The morphology and the karyotypes of two relative species of black flyes of the *Montisimulium* genus: *M. shevjakovi* Dor., Rubz., Ulas. (a typical) and *M. decimfiliatum* Rubz. were studied.

The diploid number $2n = 6$ and the principal markers of polytene chromosomes: the location of the centromere, nucleolus, puffs, Balbiani rings were determined on the squash preparations of the gonades, ganglia and salivary glands of larvae stained with aceto-orsein.

The maps of the polytene chromosomes were worked out and are published for the first time. It was shown that the morphology of these species is similar. However, the karyotypical signs — structural special features of the centromeres, nucleolus localisation and two homozygous inversions — are strictly distinct.

Вклейка к ст. Л. А. Чубаревой

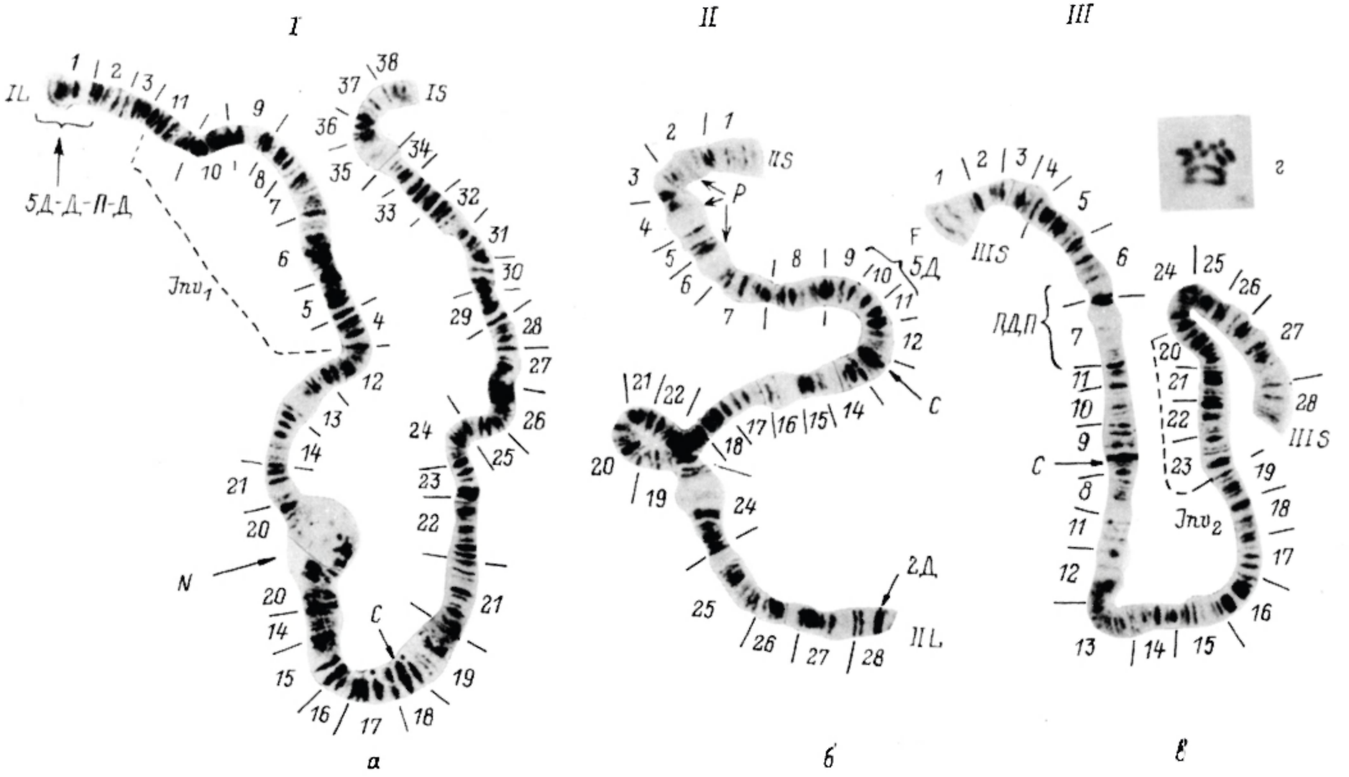

Рис. 3. Кариотип *Montisimulium shevjakovi.*

а, б, в — фотокарты политенных хромосом I, II, III; *г* — метафазная пластинка сперматогониальной клетки. *I—III* — номера хромосом; *S* — короткое плечо; *L* — длинное плечо; *N* — зона связи с ядрышком; *F* — веерообразный конец IIIS; *C* — центромера; *P* — пуфф; *Inv* — инверсия.

Fig. 3. Caryotype of *Montisimulium shevjakovi.*

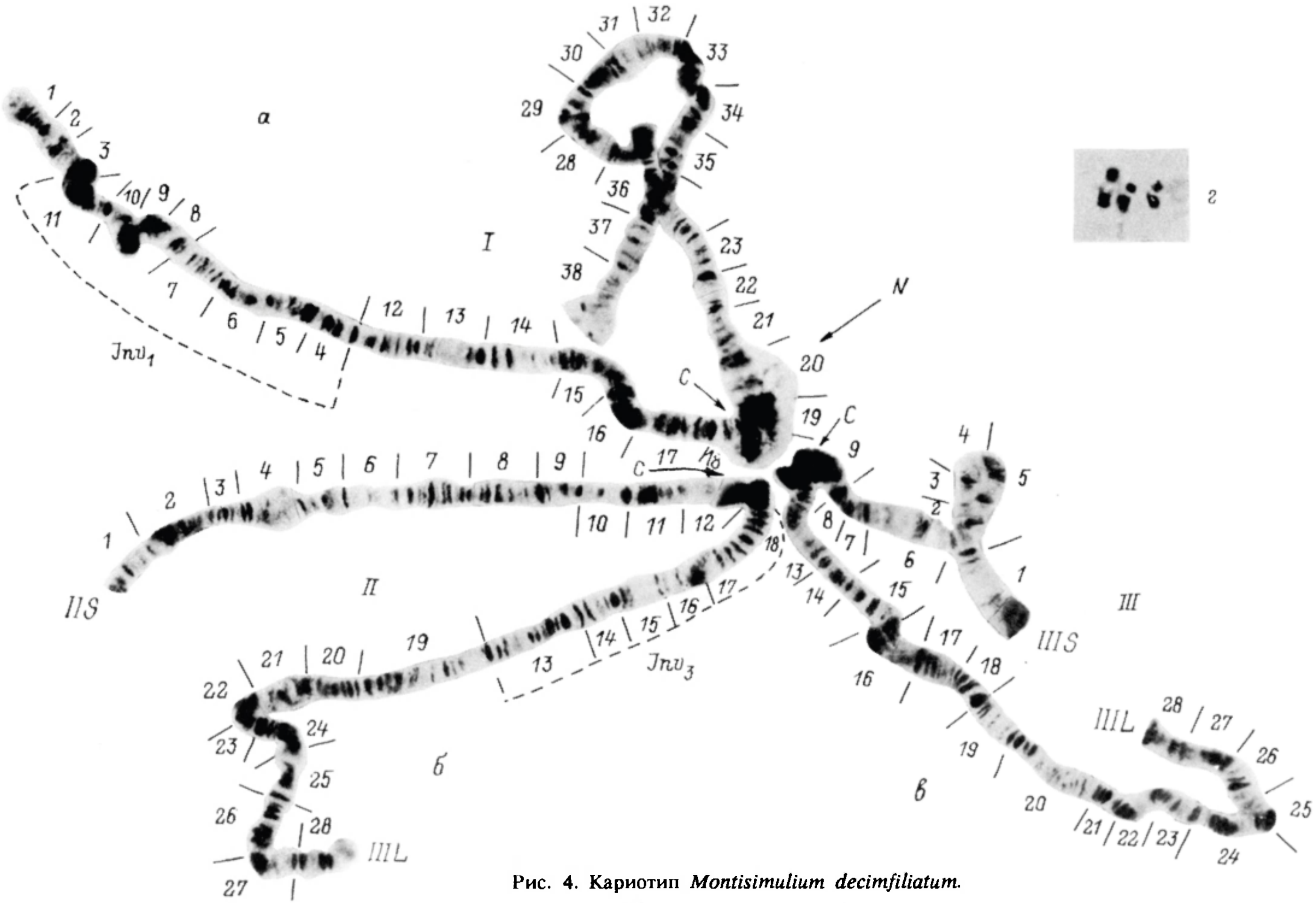

Рис. 4. Кариотип *Montisimulium decimfiliatum*.

Обозначения, как на рис. 3.

Fig. 4. Caryotype of *Montisimulium decimfiliatum*.